

平成 24 年度 分野：伝染病診断・細菌 家畜：その他 担当：大山、佐藤（裕）

## カルガモのアスペルギルス症

### 【 目的 】

2012 年 3 月、県内で発見された死亡野鳥で鳥インフルエンザウイルス N7N1 が分離されたものの、真菌症と診断した事例について、細菌・病理学的に原因菌種の同定を試みしたので、その成績を紹介します。

### 【 成績の概要 】

- **材料及び方法**：死亡したカルガモ 2 羽の凍結保存臓器、各臓器のパラフィン包埋した病理検査材料を用いました。細菌検査ではクロラムフェニコール 100mg/L を添加したポテトデキストロース寒天培地（日水製薬株、東京）を用いて真菌培養を試みました。パラフィン包埋ブロックから得られた肺組織片については DEXPAT（タカラバイオ株、滋賀）を用いて DNA を抽出精製し、Spiess らの設計したプライマー※を用い、*Aspergillus spp* (*Asp*) の特異遺伝子検出を試みました。病理検査ではパラフィン包埋材料から、薄切標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色及びグルコト染色により組織学的検査を行うとともに、抗 *Asp* マウス monoclonal 抗体、抗 *Rhizopus arrhizus* (*Rhz*) マウス monoclonal 抗体、抗 *Candida albicans* (*Can*) 家兔 polyclonal 抗体（全て Abd serotec、germany）及びプルステイン MAX-PO MULTI（ニチレイ、東京）を用いた免疫組織化学も行いました。

※ Spiess B. : J. Clin. Microbiol.、41(5)、1811-1818 (2003)

### ● 結果及びまとめ：

#### （1）細菌検査

凍結保存臓器乳材から培地に緑色集落の形成が確認され（図 1）、菌体観察の成績は図 2 のとおりで、*A. flavus* に類似していました。肺のパラフィン包埋切片から *Asp* 特異遺伝子が検出されました（図 3）。

#### （2）病理検査

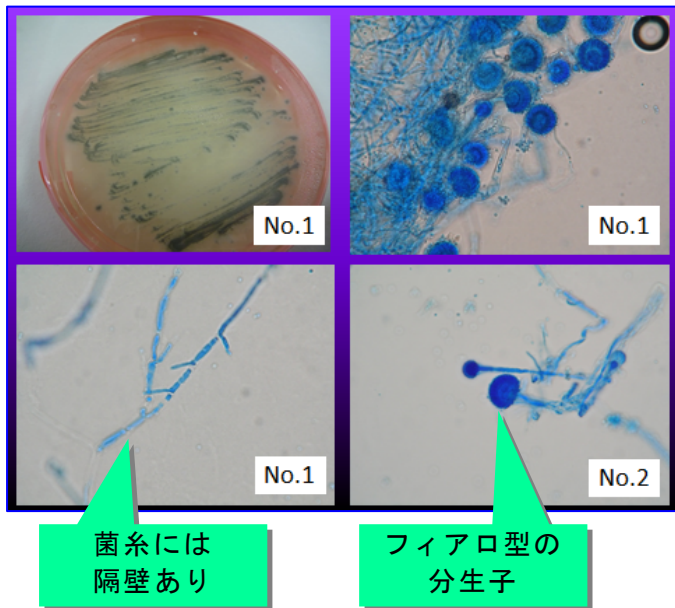
組織学的に主病変は肺に観察されました。すなわち、真菌菌糸を伴う壊死巣が気管支・傍気管支に形成され（図 4）、周囲を多核巨細胞が包囲する壊死性化膿性肉芽腫性気管支肺炎が観察されました。免疫組織化学では病変部に一致して *Asp* 抗原が検出されました（図 5）。

以上から、原因菌を *A. flavus* に類似する *Asp* と同定しました。

### 【 成績の活用 】

家畜の真菌症診断への応用。

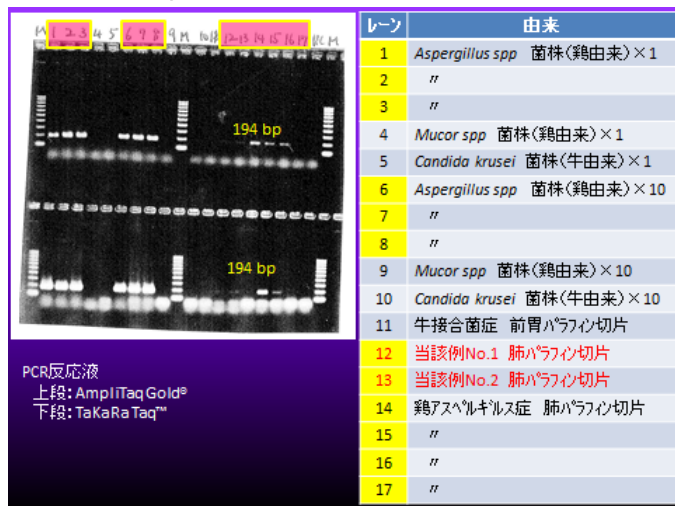
(図1) 分離された真菌



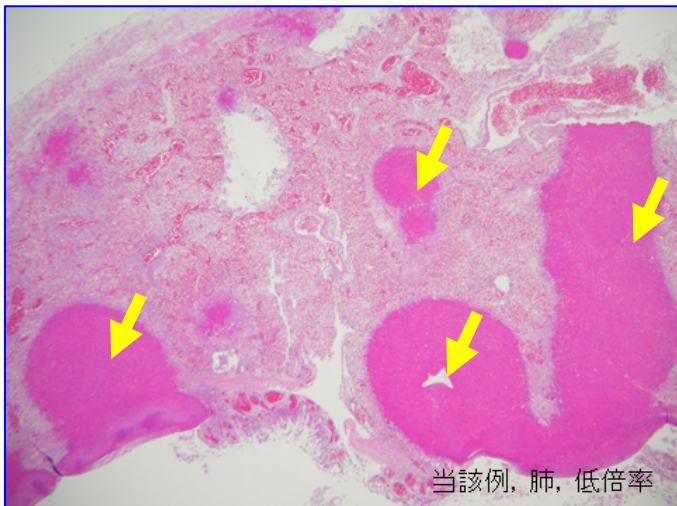
(図2) 菌体観察成績

菌種	集落の色	分生子頭	分生子柄	頂叢	梗子	分生子球形囊
<i>A.fumigatus</i>	暗緑色 灰青色	円柱状	無色 面滑	フラスコ状	1段	面棘状
<i>A.flavus</i>	黄緑色 明緑色	放射状 ~円柱状	無色 面粗	重球形 ~フラスコ状	1段 ~2段	球形 ~重球形 表面棘状
<i>A.nidulans</i>	青緑色 緑色	短円柱状	褐色 面滑	半球形	2段	球形 表面粗
<i>A.niger</i>	黒色 黒炭色	放射状 ~円柱状	無色 面滑	大型球形	2段	球形 表面棘状
<i>A.terreus</i>	黄褐色 赤褐色	長円柱状	無色 面滑	半球形 ~ドーム状	2段	球形 表面平滑
分離菌	緑色	球状 ~放射状	無色 面滑	球形 ~半球形	1段	球形 ~重球形

(図3) Aspの特異遺伝子検出



(図4) 肺に観察された広範な壊死



(図5) 壊死部で検出された Asp 抗原

